



**Faculdade de Medicina da Universidade de  
Lisboa**

**Insuficiência Ovária Primária e Preservação de Fertilidade em  
Raparigas Pré-púberes Submetidas a Químio- e Radioterapia**

Trabalho final de Mestrado Integrado em Medicina

Marta Inês de Almeida Fonseca

Orientador: Dr. Joaquim Nunes

Clínica Universitária de Obstetrícia e Ginecologia

Ano Letivo 2015-2016

# Índice

<b>Resumo e Abstract.....</b>	<b>2</b>
<b>Lista de abreviaturas e siglas .....</b>	<b>3</b>
<b>1. Introdução .....</b>	<b>4</b>
<b>2. Metodologia.....</b>	<b>4</b>
<b>3. Discussão .....</b>	<b>5</b>
<b>3.1. Insuficiência Ovária Primária.....</b>	<b>5</b>
3.1.1. Fisiopatologia .....	5
3.1.2. Clínica.....	6
3.1.3. Diagnóstico.....	7
3.1.4. Tratamento.....	7
<b>3.2. Neoplasia e Insuficiência Ovária Primária .....</b>	<b>8</b>
3.2.1. Epidemiologia.....	9
3.2.2. Efeitos secundários do tratamento de neoplasia sobre o ovário .....	9
3.2.3. Efeitos reprodutivos do tratamento de neoplasia.....	12
<b>3.3. Preservação de Fertilidade .....</b>	<b>13</b>
3.3.1. Técnicas de preservação de fertilidade em raparigas pré-púberes .....	13
3.3.2. Aplicabilidade das outras técnicas de preservação de fertilidade .....	17
3.3.3. Resultados obtidos até ao momento .....	19
<b>4. Conclusão .....</b>	<b>20</b>
<b>Referências Bibliográficas .....</b>	<b>22</b>
<b>Quadros e Figuras .....</b>	<b>26</b>

## Resumo

A Insuficiência Ovária Primária corresponde à disfunção das gonadas femininas, por causa inerente ao ovário, apesar da correta resposta das gonadotrofinas. A quimioterapia e radioterapia são as causas mais frequentes de Insuficiência Ovária Adquirida. Cerca de 30-40% das sobreviventes de neoplasias na infância desenvolvem Insuficiência Ovária Primária após terapêutica combinada com os dois agentes, esquema comumente utilizado nesta faixa etária. Esta situação trará consequências prejudiciais quer a nível físico quer a nível emocional.

Pela imaturidade do eixo hipotálamo-hipófise-ovário, as técnicas para preservação de fertilidade atualmente disponíveis são limitadas, cingindo-se praticamente à criopreservação de tecido ovárico e posterior reimplantação, permitindo o restabelecimento da função endócrina e reprodutora dos ovários. Apesar de ser uma técnica experimental, são já vários os casos de sucesso de gravidezes descritas na literatura, inclusive gravidezes espontâneas, após aplicação da técnica.

Pelo aumento da taxa de sobrevivência das neoplasias pediátricas, é atualmente recomendada a referenciação e aconselhamento destas doentes a especialistas, antes do início do tratamento.

## Abstract

*Primary Ovarian Insufficiency is a dysfunction in female gonads in which the cause is within the ovary, despite correct gonadotropin levels. Chemotherapy and radiotherapy are the most frequent causes of Acquired Ovarian Insufficiency. About 30-40% of childhood cancer survivors develop Primary Ovarian Insufficiency after combined therapy with both therapeutic agents, which is commonly used in this age group. This situation brings harmful physical and emotional consequences.*

*As a consequence of hypothalamus-hypophysis-ovarian axis immaturity, fertility preservation techniques are limited and focused basically on ovarian tissue cryopreservation and reimplantation, allowing reestablishment of hormonal and reproductive ovarian functions. Although it is considered experimental, there are several successful pregnancies described in literature, namely spontaneous pregnancy, following cryopreserved ovarian tissue transplantation.*

*Given the increase in survival rates in pediatric cancers, it is nowadays recommended specialist counselling before treatment initiation.*

## **Lista de Abreviaturas e siglas**

A. S. R. M. – American Society for Reproductive Medicine

A. A. P. – American Academy of Pediatrics

C.C.S.S. – Childhood Cancer Survivor Study

E. S. H. R. E. – European Society of Human Reproduction and Embryology

F.S.H. – Follicle-stimulating Hormone (Hormona de estimulação folicular)

GnRH – Gonadotropin-releasing Hormone (Hormona libertadora de gonadotrofinas)

I.O.P. – Insuficiência Ovária Primária

L.H. – Luteinizing hormone (Hormona Luteínica)

S.N.C. – Sistema Nervoso Central

# **Insuficiência Ovária Primária e Preservação de fertilidade em raparigas pré-púberes submetidas a quimio- e radioterapia**

## **1. Introdução**

Do total de neoplasias, as que ocorrem na infância são relativamente raras, no entanto, essa incidência está a aumentar. Paralelamente, observa-se um aumento significativo da taxa de sobrevivência, o que faz com que a população absoluta de sobreviventes deste tipo de doenças atinja um número cada vez maior<sup>1</sup>. Por essa razão, os efeitos a longo prazo quer da doença quer do tratamento são cada vez mais prevalentes e notórios tornando-se, por isso, um tema de crescente interesse na comunidade médica. Uma das principais consequências da utilização de quimioterapia e radioterapia são os danos na função ovária, com consequente insuficiência ovária e infertilidade, o que terá efeitos na saúde geral da mulher e na sua capacidade de ter uma gravidez espontânea<sup>2</sup>. Enquanto que as mulheres adultas têm à sua disposição diversas técnicas para preservação da fertilidade muitas delas não são aplicáveis na pré-puberdade pelo estado de imaturidade do eixo hipotálamo-hipófise-ovário. Para além disso, face à gravidade da doença e a idade precoce das doentes, estas são questões muitas vezes deixadas de parte na altura do aconselhamento pré-tratamento<sup>3</sup>.

Pelo aumento da prevalência de sobreviventes de neoplasias na infância submetidas a quimio e radioterapia, as questões relacionadas com os seus efeitos a longo prazo estão na ordem do dia e, em particular, a questão da preservação da fertilidade tem tido um grande desenvolvimento nos últimos anos, sendo diversas as publicações encontradas na literatura médica, em áreas que vão desde a Pediatria à Fertilidade, passando pela Oncologia Médica. Este trabalho tem como objetivo rever e compilar alguma da informação publicada.

## **2. Metodologia**

A realização do trabalho incluiu três etapas. Inicialmente procedeu-se à pesquisa, em várias bases de dados (Pub Med, Elsevier, ASRM, ESHRE, AAP), das mais recentes publicações científicas na área, utilizando como datas preferenciais as publicações entre os anos 2000 e 2015. Foram usadas como palavras-chave, em língua inglesa, para a pesquisa: insuficiência; ovária; primária; quimioterapia; radioterapia; infertilidade; preservação; pré-puberdade. Posteriormente os artigos recolhidos foram analisados e a

informação integrada. A última fase do trabalho incidiu na produção do texto de revisão apresentado e retiradas conclusões que possam servir de base para a continuação do desenvolvimento da investigação.

### **3. Discussão**

#### **3.1. Insuficiência ovárica primária**

Os ovários são órgãos com funções reprodutivas e endócrinas que se relacionam e são essenciais em vários aspetos da saúde da mulher, em particular, para a reprodução<sup>4</sup>. Fisiologicamente ocorre uma depleção de folículos ováricos logo desde o desenvolvimento embrionário, atingindo um máximo às 20 semanas de gestação, assistindo-se depois a uma contínua diminuição da reserva ovárica, ocorrendo a menopausa quando esta alcança cerca de 1000 folículos<sup>5;6</sup>. Clinicamente assiste-se, progressivamente, a irregularidade menstrual, défice de hormonas ováricas, anovulação, infertilidade e por fim a cessação completa da menstruação. Várias situações podem levar a defeitos neste processo de produção hormonal e gametas, condicionando a função ovárica<sup>6</sup>.

##### **3.1.1. Fisiopatologia**

Diversos fatores podem acelerar a normal taxa de depleção ovárica, como fatores genéticos, doenças sistémicas, mecanismos auto-imunes, agentes infecciosos, cirurgia, quimioterapia, radioterapia ou terapêutica imunomoduladora<sup>4</sup>. Na maior parte dos casos de I.O.P. a causa é desconhecida<sup>5;7</sup>.

A insuficiência ovárica é considerada primária quando é o próprio ovário que falha em responder a corretos níveis de gonadotrofinas libertadas pela hipófise para estimular o seu funcionamento. Pode também ser secundária a alterações noutros órgãos, nomeadamente da estimulação ao nível do S.N.C<sup>6</sup>.

Na base da fisiopatologia da doença estão dois mecanismos principais: disfunção ou depleção folicular<sup>7</sup>. As principais causas de défices qualitativos são maioritariamente fatores genéticos, enquanto que os défices quantitativos da reserva ovárica podem dever-se a uma situação de baixa reserva inicial, igualmente associada a alterações em diversos genes, ou uma aceleração do ritmo de destruição dessas células que pode surgir em síndromes genéticas (das quais a Síndrome de Turner é o exemplo mais paradigmático), doenças sistémicas e auto-imunes, ou por exposição a fatores extrínsecos, como ambientes tóxicos, infeções, terapêutica imunomoduladora e

imunossupressora, quimio e radioterapia<sup>6;7</sup>. Estas últimas são as causas mais frequentes de Insuficiência Ovárica Adquirida<sup>6</sup>.

### **3.1.2. Clínica**

A clínica é muito variável consoante a causa, nomeadamente quando associada a síndromes genéticas com várias apresentações que lhes são características.<sup>7</sup>

A I.O.P. inclui um extenso conjunto de disfunções ovárias e sugere a possibilidade de recuperação intermitente da sua atividade<sup>5</sup>, o que a distingue de menopausa precoce, podendo assim apresentar uma evolução mais lenta, com alguns episódios de melhoria da sintomatologia<sup>6</sup>. É definida pela presença de uma tríade de sinais e sintomas que inclui amenorreia (pelo menos quatro meses), défice de hormonas sexuais e FSH sérica superior a 40IU/L em pelo menos duas medições com o intervalo de um mês, numa mulher com idade inferior a 40 anos<sup>6;7</sup>. Estas mulheres apresentam muitas vezes sintomas vasomotores (afrontamentos, suores noturnos), distúrbios do sono, dispareunia e atrofia vaginal, associados ao défice hormonal<sup>7</sup>.

Nos casos não agudos da doença as mulheres continuam a ter ciclos menstruais mais ou menos regulares desencadeando-se mais tarde a sucessão de estadios da doença: insuficiência ovária oculta (infertilidade inexplicada com FSH sérica normal), insuficiência ovária bioquímica (infertilidade inexplicada com FSH sérica ligeiramente aumentada), insuficiência ovária evidente (menstruação irregular, que se pode traduzir em oligoamenorreia, poliamenorreia ou metrorragias, e níveis mais aumentados de FSH) e por fim a falência ovária (amenorreia, infertilidade permanente e elevação da FSH para níveis pós-menopausa)<sup>6</sup>.

Quando a causa da insuficiência ovária está presente logo na infância, a disfunção pode ocorrer ainda antes da puberdade. Nestes casos, associado a uma amenorreia primária poderão surgir também problemas de crescimento (baixa estatura), densidade óssea diminuída e perturbações do desenvolvimento pubertário, com as consequentes implicações psicossociais tanto na criança como nos pais. Em alguns casos, estas raparigas não têm uma falência ovária aguda, apresentando um desenvolvimento pubertário normal, acabando por desenvolver amenorreia secundária anos mais tarde<sup>3;4</sup>.

### **3.1.3. Diagnóstico**

Os casos de I.O.P. devem ser avaliados como qualquer outra situação clínica: história clínica, exame objetivo e exames complementares com a finalidade de diagnosticar as diversas causas da doença já apresentadas<sup>6</sup>.

Atualmente, o principal desafio está na avaliação da reserva ovárica ainda disponível, que será o dado que confirmará a falência funcional do órgão. Vários testes têm sido desenvolvidos baseados em doseamentos hormonais e imagiologia. Os resultados mais promissores apontam para a contagem dos folículos antrais, avaliação do tamanho dos folículos primordiais e doseamento da hormona Anti-Mulleriana<sup>8</sup>, com forte correlação positiva entre eles demonstrada em diversos estudos<sup>9</sup>. Esta última parece regular o número de folículos que se mantém em estádio primordial e o processo de seleção folicular<sup>10</sup>, verificando-se uma alteração dos seus níveis séricos prévia à dos outros marcadores, para além de que os seus níveis não parecem ser afetados por variações cíclicas menstruais, contraceção hormonal, agonistas GnRH ou pela gravidez<sup>8;9</sup>.

### **3.1.4. Tratamento**

Como já referido, a função ovárica vai para além da reprodução com ações em vários aspetos do funcionamento global do organismo feminino, pela sua função endócrina. Nestas mulheres observam-se alterações a nível ósseo (com perda progressiva de osso trabecular culminando com o aparecimento de osteoporose),<sup>6</sup> cognitivo (défices cognitivos minor e demência<sup>11</sup>, sintomas parkinsonianos<sup>12</sup> e aumento da mortalidade por doenças neurológicas ou mentais<sup>13</sup>), cardiovascular (maior taxa de mortalidade por causa cardiovascular, maior prevalência de doenças cardiovasculares e alterações no perfil lipídico<sup>14</sup>), sexual e bem estar emocional<sup>6</sup>. As consequências cardiovasculares parecem ser aquelas com maior relação com a idade em que a falência ovárica ocorreu, tendo Joakimsen *et al.* demonstrado que a idade em que a menopausa ocorre está associada a um aumento da aterosclerose nas artérias carótidas<sup>14</sup>.

Em mulheres diagnosticadas com I.O.P. está recomendada terapêutica hormonal (terapêutica combinada de estradiol 100µg/dia e acetato de medroxiprogesterona 10 mg/dia durante 12 dias por mês)<sup>7</sup> pelo menos até à idade média de menopausa, complementada por um estilo de vida saudável, por se verificar uma diminuição dos sintomas vasomotores e melhoria da integridade óssea e fatores de risco cardiovascular<sup>4;14</sup>.



No caso dos sobreviventes de neoplasias da infância que desenvolveram I.O.P., a terapêutica de substituição hormonal é necessária para indução da puberdade e consequente desenvolvimento da criança para a idade adulta, permitindo o seu desenvolvimento físico, sexual e psicossocial<sup>15</sup>. No entanto, esta é uma população especial, na medida em que a falência ovárica ocorre muito precocemente e por isso estará durante muito tempo exposta aos efeitos da terapêutica hormonal exógena. Apesar do risco aumentado de cancro de mama e trombose venosa parece existir benefício na utilização de terapêutica de substituição hormonal em raparigas pré-púberes que sofreram I.O.P. aguda após tratamentos de quimio e/ou radioterapia<sup>16</sup>, permitindo o desenvolvimento mamário, menarca, crescimento até uma altura apropriada à idade, prevenção de atrofia vaginal, aquisição de uma densidade óssea normal e correto desenvolvimento cerebral<sup>15</sup>. No entanto cada caso deve ser analisado individualmente, tendo em conta a história familiar e fatores de risco associados, e o esquema terapêutico deve ser adequado a cada doente e às suas características pessoais<sup>16</sup>.

Apesar de todas estas alterações físicas, as consequências mais comuns e com maior repercussão na vida da mulher são a nível emocional. De uma forma geralmente inesperada vêm-se numa situação característica de idades mais avançadas e associada a um grande estigma social. Mas o principal fator a contribuir para o elevado nível de ansiedade, depressão e baixa auto-estima é a infertilidade repentina com que se deparam<sup>17</sup> (apesar de 5 a 10% de probabilidade de gravidez nos períodos intermitentes de recuperação da função ovárica<sup>18</sup>). É por isso essencial fornecer-lhes as ferramentas possíveis para que a sua fertilidade seja conservada permitindo uma maternidade o mais próximo do natural possível.

### **3.2. Neoplasia e Insuficiência Ovárica Primária**

Os cancros na infância representam apenas 1% de todas as doenças malignas, no entanto esta incidência está a aumentar, assistindo-se, paralelamente, a uma crescente taxa de sobrevivência, pela melhoria das técnicas de diagnóstico e pelo extenso desenvolvimento dos tratamentos. As estatísticas mostram que a taxa de sobrevivência para o cancro na infância subiu de cerca de 60% (entre 1975 e 1978) para cerca de 80% (entre 1999 e 2002).<sup>1</sup>

Um dos principais efeitos da utilização de quimioterapia e radioterapia são os danos na função ovárica, com consequente insuficiência destes e infertilidade, com

importantes consequências na qualidade de vida futura da sobrevivente. Atualmente, é defendida e recomendada, pelas diversas áreas envolvidas, desde a oncologia à saúde reprodutiva, a referenciação destas doentes para especialistas logo no início do tratamento <sup>2</sup>.

### **3.2.1. Epidemiologia**

Segundo dados americanos, o cancro é a segunda causa de morte em crianças com menos de 15 anos, apenas ultrapassado pelos acidentes. As neoplasias mais prevalentes nestas idades são as leucemias (34%), a maioria Leucemias Linfoblásticas Agudas e, em menor escala, Leucemias Mieloides Agudas, e neoplasias do Sistema Nervoso Central (25%).<sup>3</sup>

O estudo C.C.S.S. foi realizado com vista a analisar os efeitos dos tratamentos de cancro diagnosticado na infância. Avaliando os efeitos na função ovárica observa-se uma falência ovárica aguda em 6,3% das sobreviventes<sup>19</sup>. Estudos de acompanhamento das doentes a longo prazo mostraram que cerca de 8% desenvolveram menopausa precoce, comparado com as suas irmãs não submetidas a tratamentos de cancro. Quando a radioterapia foi associada ao tratamento esta percentagem subiu para 30-40%<sup>20</sup>. Cancros como os sarcomas e neoplasias do SNC são as doenças mais frequentemente relacionadas com este tipo de consequência a longo prazo, e, em menor escala, leucemias e linfomas de alto risco<sup>21</sup> (ver quadro 1).

### **3.2.2. Efeitos secundários do tratamento de neoplasias sobre o ovário**

Os efeitos da terapêutica química citotóxica e radiação a nível ovárico dependem de vários fatores, nomeadamente, a idade em que foram aplicadas, tipo e estadió da doença, qual a droga e forma de administração utilizados, localização e extensão do campo da radiação, dose/intensidade do tratamento. A principal consequência destas terapêuticas a nível ovárico é a diminuição da reserva ovárica. Tendo em conta a redução fisiológica de folículos ováricos, depreende-se que em doentes nas quais o tratamento para a neoplasia seja aplicado mais tarde, estes efeitos gonadotóxicos serão observados para doses menores<sup>3</sup>.

Nas doentes em idade pediátrica estamos perante dois tipos de população em diferentes estádios de função ovárica, o que se traduz na clínica. Nas crianças pré-púberes assiste-se normalmente a um atraso na puberdade, irregularidade menstrual e mais tarde infertilidade e insuficiência ovárica. Nas adolescentes pós-púberes a

evidência clínica dos efeitos da quimio e radioterapias é mais clara, podendo traduzir-se numa insuficiência ovárica, aguda ou não<sup>3</sup>.

### **Quimioterapia**

Nem todas as drogas utilizadas no tratamento de neoplasias estão associadas a gonadotoxicidade, alguns delas provocam apenas infertilidade transitória. Os agentes alquilantes são aqueles que apresentam um maior risco de infertilidade permanente (ver quadro 2) e são fármacos que fazem parte de quase todos os regimes terapêuticos usados em neoplasias na infância<sup>3</sup>. Estudos mostram uma relação dose dependente entre a utilização de ciclofosfamida, ifosfamida e procarbazina e o desenvolvimento de falência ovárica<sup>21</sup>. Geralmente os esquemas terapêuticos combinam diversas drogas, o que dificulta a análise dos seus efeitos individualmente, ainda assim a ciclofosfamida é o agente mais citotóxico por atingir quer células em estado latente quer células em divisão celular, estando demonstrado o aumento exponencial dos danos foliculares com doses crescentes do fármaco<sup>21</sup>.

A fisiopatologia da toxicidade da quimioterapia é a indução da apoptose dos folículos primordiais, tendo como principal alvo as células da granulosa. Observações histológicas mostram diversas alterações nas gónadas femininas, com fibrose do estroma ovárico e redução do número de folículos até completa ausência destes<sup>23;24;25</sup>.

### **Radioterapia**

A radioterapia pode ser usada quer isolada quer associada a quimioterapia e os seus efeitos fazem-se sentir tanto pela incidência direta nos ovários, por estes fazerem parte do campo do tratamento, como através de radiação dispersa, que não incide diretamente naquela região anatómica<sup>3</sup>.

As raparigas pré-puberes têm uma maior reserva ovárica do que as mulheres mais velhas, o que faz com que os seus ovários sejam menos sensíveis aos efeitos da radiação. Por isso o risco de infertilidade é diferente de acordo com a idade da doente. Atualmente estão comprovadas como doses de radioterapia a partir das quais a doente ficará estéril: 20.3 Gy ao nascimento, 18.4 Gy aos 10 anos, 16.5 Gy aos 20 anos e 14.3 Gy aos 30 anos.<sup>26</sup> O modelo de Faddy-Gosden pode ser utilizado para prever a idade em que irá ocorrer a falência ovárica de uma doente, tendo em conta a idade e dose de radioterapia recebida<sup>23;27</sup>. No entanto, sabe-se que os oócitos são muito sensíveis à

radiação ionizante e doses de apenas 10 a 20 Gy já afetam a função ovárica, notando-se uma redução da reserva ovárica dose-dependente<sup>28</sup>.

Apesar dos evidentes efeitos da radiação ionizante a nível ovárico, os efeitos reprodutivos da radioterapia estendem-se ao útero e ao eixo hipotálamo-hipófise-ovário. Quando é aplicada radiação na região abdominal e pélvica observam-se alterações uterinas como a produção de cicatrizes, diminuição do fluxo sanguíneo, redução do volume uterino, menor espessura endometrial e perda da elasticidade da musculatura uterina, associado a maior frequência de subfertilidade, abortos e partos pré-termo<sup>22</sup>. Ao contrário do que acontece com os efeitos ováricos, as consequências a nível do útero são maiores em raparigas pré-púberes<sup>27</sup>. Para além disso, também a radioterapia craniana pode alterar o funcionamento ovárico por provocar distúrbios a nível do eixo hipotálamo-hipófise-ovário. Estudos mostram uma diminuição dos níveis séricos de gonadotrofinas para radiação craniana superior a 35-45 Gy, o que provocará uma Insuficiência Ovárica Secundária e um atraso na puberdade<sup>3;23</sup>.

Existem estudos realizados em raparigas pré-púberes e púberes, que relacionam a dose de radioterapia com as consequências reprodutivas. Sabe-se que para uma dose de radiação pélvica superior a 15 Gy desenvolve-se sempre disfunção ovárica, a partir dos 10 Gy existe um alto risco de perda de fertilidade, mas logo a partir dos 5 Gy o risco é já significativo<sup>3</sup>.

### **Transplante de Células Estaminais**

Este tipo de terapêutica merece destaque ao falarmos de consequências dos tratamentos de neoplasias na infância, na medida em que faz parte dos regimes terapêuticos na grande maioria das situações cancerígenas pediátricas, pela elevada prevalência de neoplasias hematológicas, sendo também utilizado em doenças benignas<sup>3</sup>. O potencial risco de infertilidade nestes casos não está associado ao transplante de células hematopoiéticas por si só, mas sim às terapêuticas que têm de lhe ser associadas para garantir o seu sucesso, nomeadamente quimioterapia com agentes alquilantes em altas doses e radioterapia geralmente de todo o corpo<sup>29</sup>. A taxa de I.O.P. em mulheres, independentemente da sua idade, protocolo de tratamento ou utilização de terapêutica hormonal, após transplante de medula óssea é próxima de 100%<sup>30</sup>, o que torna a problemática da preservação de fertilidade destas raparigas um assunto de extrema importância e com consequências relevantes a médio e longo prazo<sup>3</sup>.

### **3.2.3. Efeitos reprodutivos dos tratamentos de neoplasias**

Pelo explicado anteriormente, o tratamento de neoplasias tem efeitos nefastos na função ovárica e no sucesso reprodutivo dessas doentes a longo prazo. As principais consequências reprodutivas da quimioterapia e radioterapia são a Insuficiência Ovárica e os desfechos adversos da gravidez. Estudos mostram que o risco de infertilidade é maior quando é feita terapêutica combinada (quimioterapia + radioterapia) quando comparada com o uso isolado de quimioterapia<sup>20;21</sup>.

#### **Insuficiência Ovárica Primária**

O desenvolvimento de I.O.P. depende de fatores como a idade mais avançada da doente na altura de aplicação da terapêutica, da utilização de radioterapia abdominal, pélvica ou espinhal e do uso de agentes alquilantes como quimioterapia<sup>26;31</sup>.

De acordo com o C.C.S.S., quando analisada a I.O.P. aguda (ocorre durante o período de tratamento ou pouco tempo depois), esta condição foi desenvolvida por 6,3% das mulheres incluídas. Como principais fatores de risco evidenciaram-se a maior idade na altura do diagnóstico, doentes com Linfoma de Hodgkin e terem sido submetidas a radioterapia abdominal ou pélvica. De facto o principal fator de risco identificado foi a radioterapia superior a 20 Gy, uma vez que 70% das doentes que receberam este tratamento desenvolveram falência ovárica aguda. Outros fatores de risco independentes importantes são a exposição a procarbazina em qualquer idade e a ciclofosfamida entre os 13 e os 20 anos<sup>32</sup>.

Outro problema é o desenvolvimento de menopausa precoce que, apesar de ser frequente em mulheres submetidas a tratamentos de neoplasia em idade adulta, existem poucos estudos acerca desta situação na infância. Segundo o C.C.S.S., 8% dos sobreviventes analisados desenvolveram menopausa precoce. Da análise estatística realizada concluiu-se ainda que os principais fatores de risco para menopausa precoce não cirúrgica são o aumento do score de agente alquilante (que tem em conta a quantidade de agentes e dose de cada um deles), a combinação deste com radioterapia abdomino-pélvica e o diagnóstico de linfoma de Hodgkin<sup>19</sup>.

#### **Desfecho da gravidez**

Pode acontecer que, mesmo após radioterapia abdominal ou pélvica, as doentes preservem a sua função ovárica e, portanto, fertilidade. No entanto vários estudos demonstram um aumento dos problemas relacionados com a gravidez nestes casos pelos

danos na vasculatura e musculatura uterinas<sup>33</sup>. Critchley *et al.* sugerem que estes danos condicionam uma série de alterações, tais como a diminuição do tamanho do útero, ausência de proliferação endometrial adequada em resposta à estimulação hormonal exógena e diminuição do fluxo sanguíneo detectado por EcoDoppler nas artérias uterinas<sup>33; 34</sup>.

Uma das principais consequências é o risco aumentado de ter um recém-nascido de baixo peso em mulheres tratadas na infância com radioterapia abdomino-pélvica dose dependente, como mostrou Chiarelli *et al*<sup>35</sup>. Outros estudos demonstram outros problemas como feto em posição errada e parto pré-termo, com frequências a aumentar de acordo com o aumento da dose de radiação, aumento do risco de aborto espontâneo tardio e maior risco de hemorragia pós-parto<sup>19;33</sup>. O risco de problemas na gravidez é maior quanto menor a idade da doente na altura de aplicação da radioterapia<sup>4</sup>.

No C.C.S.S., ao comparar as doentes tratadas com radioterapia na infância e as suas irmãs, concluiu-se que as primeiras têm uma menor probabilidade de gravidez com sucesso, maior risco de aborto espontâneo (encontrando-se este aumento de risco também para a radioterapia craniana ou crânio-espinhal), maior risco de parto pré-termo (para doses de radiação uterina superiores a 0.05 Gy) e maior risco de recém-nascido de baixo peso ou pequeno para a idade gestacional. Não se encontraram alterações estatisticamente significativas face ao grupo de controlo em relação aos tratamentos com quimioterapia exclusiva, exceto nos tratamentos com doxorubicina ou daunorrubicina em que o risco aumentado de recém-nascido de baixo peso parece ser independente do uso de radioterapia<sup>19</sup>.

Apesar destas alterações no decurso da gravidez, aparentemente não existem diferenças no risco de desenvolvimento de doenças genéticas em filhos concebidos após o tratamento<sup>19;35</sup>.

### **3.3. Preservação da fertilidade**

#### **3.3.1. Técnicas de preservação de fertilidade em raparigas pré-púberes**

As mulheres adultas têm à sua disposição diversas técnicas para preservação da fertilidade quando submetidas a tratamentos para doenças neoplásicas, que pressupõem a maturidade do eixo hipotálamo-hipófise-ovário. Isso não acontece na infância condicionando a utilização de muitas das técnicas disponíveis, nomeadamente aquelas

que se baseiam em terapêutica hormonal. Por esta razão, as técnicas atualmente disponíveis para raparigas pré-púberes são apenas a remoção e criopreservação de tecido ovárico e a transposição das gónadas (nos casos de radioterapia pélvica exclusiva), apesar de técnicas consideradas experimentais<sup>3;23</sup>.

Para além da I.O.P., não podemos esquecer os efeitos dos tratamentos no útero que irão condicionar o sucesso da gravidez. Verifica-se que nas raparigas pré-púberes este órgão não terá um desenvolvimento normal, apresentando-se hipoplásico e disfuncional, beneficiando de terapêutica de substituição hormonal para tentar induzir a maturação e desenvolvimento uterinos. No entanto, alguns estudos mostram que, após exposição a hormonas exógenas, o útero não tem uma maturação igual à que apresenta quando exposto às variações endógenas das hormonas sexuais, que não são completamente igualadas pela terapêutica de substituição. O transplante autólogo de tecido ovárico criopreservado constitui uma promissora alternativa, possibilitando um desenvolvimento fisiológico normal para além de manter a fertilidade da rapariga<sup>36</sup>.

A percentagem de doentes de cancro que irão desenvolver I.O.P. e subfertilidade é relativamente pequena, o que faz com que muitas vezes os médicos se foquem na neoplasia, cujo tratamento é de muito maior importância, descurando a abordagem desta consequência mais tardia. Estudos denunciam que, em raparigas pré-púberes, em apenas 60% dos casos é discutida a questão da preservação de fertilidade, tendo sido apontada como principal razão o facto do risco não ser significativo<sup>23</sup>.

### **Criopreservação do tecido ovárico**

A criopreservação de tecido ovárico tem-se mostrado como o método mais vantajoso das técnicas disponíveis. Para além de manter o potencial reprodutivo da futura mulher, conserva a unidade funcional do ovário e, consequentemente, o seu potencial de produção regular de hormonas sexuais, o que permitirá ter menstruações cíclicas e regulares e beneficiar dos efeitos sistémicos que as hormonas sexuais desempenham no organismo<sup>36</sup>. Esta é considerada uma técnica experimental de preservação de fertilidade, mas é a preferida para os casos de crianças pré-púberes e é, também, a técnica escolhida nos casos de mulheres mais velhas, mas em que é necessário instituir a terapêutica anti-neoplásica rapidamente, sem tempo para esperar pelo processo de estimulação hormonal e colheita de oócitos, ou quando estas não conseguiriam tolerar os efeitos da terapêutica hormonal<sup>3</sup>.

O primeiro passo do procedimento consiste na remoção de tecido cortical do ovário por via laparoscópica. Normalmente, menos de metade do órgão é suficiente, pela riqueza em folículos primordiais. A segunda fase deste processo é a criopreservação do tecido recolhido. Depois de dividido em pequenos fragmentos, o tecido pode ser preservado por dois métodos, a vitrificação e o congelamento lento<sup>3</sup>. O congelamento lento é a técnica mais utilizada atualmente mas que, apesar de eficaz, apresenta desvantagens como uma menor sobrevivência do estroma ovárico e a indução de alguns danos no endotélio da vasculatura ovárica, pelo que se pensa que será substituída pela técnica de vitrificação, mais recente<sup>37</sup>. Ainda assim a técnica apresenta bons resultados com cerca de metade dos folículos da amostra depois de descongelada completamente intactos (viabilidade de oócitos de 42%), e a restante percentagem de folículos com pequenos danos, sendo a percentagem de folículos mortos próxima do zero<sup>37;38</sup>. Por outro lado, a vitrificação, que consiste num arrefecimento rápido e posterior reaquecimento, com colocação de uma substância crioprotetora, está associada a melhores resultados na medida em que existe uma menor formação de cristais, com uma melhor viabilidade do córtex ovárico, sem provocar danos na vasculatura, resultando numa viabilidade de oócitos de 92%<sup>3;37;39</sup>.

Os tecidos ficam preservados até que a doente esteja livre da doença. Só nessa altura se continua o procedimento em que o tecido é descongelado e re-implantado, para permitir a recuperação da função ovárica normal e o fisiológico desenvolvimento sexual<sup>37</sup>. A re-implantação pode ser feita de duas formas: re-implantação ortotópica, em que o tecido é colocado no seu local de origem, na fossa ovárica, ou no peritонеu adjacente às fimbrias da trompa de Falópio, ou re-implantação heterotópica, em que o fragmento ovárico é colocado fora da sua localização anatómica normal, geralmente no tecido subcutâneo do antebraço, parede abdominal ou músculos retos do abdomen<sup>23;37</sup>. Este último método não permite que ocorram gravidezes espontâneas, sendo apenas reposta a função endócrina do ovário com necessidade de colheita de oócitos maduros para se proceder a fertilização in vitro<sup>40</sup>, existindo, no entanto, casos de gravidezes espontâneas após transplante heterotópico de tecido ovárico<sup>37</sup>. Duas hipóteses foram colocadas para explicar o fenómeno: as células germinais no tecido reimplantado re-colonizaram o restante ovário ou o ovário contra-lateral, ou essas mesmas células ativam, por sinalização endócrina-parácrina, as células germinais quiescentes que se encontravam nestes, levando ao desenvolvimento e maturação folicular em oócitos<sup>37;41</sup>. Usando o transplante ortotópico consegue-se recuperar quer a função hormonal quer



reprodutora dos ovários. Apesar de promissor, os resultados conseguidos em relação à recuperação da função reprodutora espontânea não são tão consistentes como para a função endócrina, que está amplamente provada como sendo possível e duradora<sup>37</sup>, mas o número de gravidezes bem sucedidas após este tipo de transplante está a aumentar<sup>42</sup>.

No transplante que é feito após a criopreservação não é recolocado na mulher a totalidade do ovário, o que faz com que a reserva ovárica que esta apresentava antes da remoção do órgão não seja reimplantada intacta, mas sim uma menor quantidade de células<sup>43</sup>. No entanto, a utilização de apenas 20% do ovário pré-púbere parece ser suficiente para a restauração da puberdade, pela abundância em folículos primordiais do córtex ovárico nesta fase da vida. Para além disso, devido à redução fisiológica da reserva ovárica, a quantidade de folículos de apenas um segmento do ovário pré-púbere excede a quantidade que uma mulher adulta não sujeita a tratamentos de quimio e radioterapia terá aquando da altura média de engravidar. Por esta razão, os cientistas acreditam que a quantidade de folículos reimplantados na mulher seja suficiente para um funcionamento ovárico normal<sup>36</sup>.

Estudos acerca da transplantação de tecido ovárico mostraram vários fatores que influenciam o sucesso do procedimento, nomeadamente a distribuição não homogénea dos folículos no córtex ovárico, a diminuição fisiológica da quantidade de folículos e o tamanho do fragmento<sup>37</sup>. Os casos de insucesso da técnica devem-se, sobretudo, à isquémia do tecido após a reimplantação e a maior perda de folículos parece dever-se ao transplante e não à técnica de preservação<sup>3</sup>. Aparentemente a quimioterapia provoca alterações na vasculatura ovárica, o que faz com que o local de implantação do enxerto não tenha as condições vasculares ideais. De facto, em estudos com ratinhos, observa-se um atraso de dois a cinco dias na revascularização do enxerto em relação à implantação, uma vez que esta depende de processos de neoangiogenese e formação de vasos quiméricos com os já existentes<sup>44</sup>. Atualmente são várias as pesquisas a serem realizadas para tentar contornar este problema, nomeadamente o estudo de fatores anti-apoptóticos e angiogénicos<sup>37;44</sup>.

A criopreservação de tecido ovárico não está isenta de riscos para a criança. Estes residem sobretudo nos perigos de uma cirurgia laparoscópica que, apesar de raros, estão sempre presentes, como o risco de hemorragia, infeção, complicações anestésicas<sup>3</sup>. Outro problema que muitos chamam à atenção é o perigo de reaparecimento da neoplasia depois do auto-transplante. Embora não existam casos descritos e a análise de perto de 400 amostras de tecido tenha revelado apenas 1,3% de

positividade para células malignas, o perigo é maior nos casos de neoplasias hematológicas e este risco não deve ser negligenciado<sup>45</sup>. Recorrendo à maturação dos folículos imaturos *in vitro*, a criopreservação de tecido ovárico pré-púbere pode permitir conservar a função reprodutora da rapariga sem ser necessário submetê-la a outra cirurgia, evitando assim o risco de re-transplantação de células malignas, enquanto a função endócrina seria assegurada com terapêutica hormonal. Esta técnica está ainda em estudo, mas têm sido obtidos resultados positivos quando tentada em ratos e parece ser um método promissor para as sobreviventes de neoplasias hematológicas<sup>23</sup>.

O primeiro caso de transplante de tecido ovárico após criopreservação ocorreu em 1999 e a primeira gravidez resultante desta técnica em 2004. Desde aqui, registaram-se já 15 crianças resultantes de gravidezes após autotransplante de tecido ovárico criopreservado, a maioria por técnicas de reprodução medicamente assistida<sup>37</sup>.

### **Transposição dos ovários**

Outra das técnicas que pode ser utilizada em raparigas pré-púberes é a transposição dos ovários (ooforopexia), que consiste na mudança de localização destes, mantendo o pedículo vascular, para um local fora do campo da radioterapia, diminuindo a dose de radiação que os atinge. Normalmente é movido um ou ambos os ovários para trás do útero ou para uma posição superior no abdómen, na região sub-diafragmática<sup>23</sup>. Para além dos riscos inerentes à cirurgia para mover os ovários do seu local anatómico normal, é necessário proceder a uma segunda cirurgia ou técnicas de fertilização *in vitro* quando a rapariga quiser engravidar e está associado a maior prevalência de dor crónica e formação de quistos ováricos. A principal desvantagem da técnica é que a proteção contra a diminuição da reserva ovárica não é total, estando muito diminuída quando se realiza radioterapia dispersa, e só pode ser aplicada quando o tratamento não contempla a combinação com quimioterapia<sup>23;24</sup>.

Somando a estas limitações, os dados em relação à eficácia da técnica são muito controversos o que faz com que seja uma opção raramente utilizada<sup>23</sup>.

### **3.3.2. Aplicabilidade das outras técnicas de preservação de fertilidade**

Tal como já referido acima, as técnicas de preservação de fertilidade em adolescentes e mulheres mais velhas, são mais diversificadas do que nas crianças, pela maturidade sexual que apresentam<sup>26</sup>. Para além da criopreservação de tecido ovárico e transposição das gonadas femininas, estas podem recorrer à administração de análogos

de GnRH e estimulação hormonal para colheita e criopreservação de oócitos, fertilizados ou não. Outra opção é o auto-transplante de ovário completo, mas que é uma técnica ainda pouco desenvolvida, sendo poucos os casos descritos que a utilizaram<sup>3</sup>.

### **Análogos GnRH**

Não existem estudos da aplicabilidade dos análogos de GnRH em raparigas pré-púberes para proteção da sua fertilidade quando submetidas a quimioterapia e radioterapia gonadotóxica. As razões apresentadas para isso são os resultados controversos em adultos e a incerteza de que não tenham qualquer tipo de efeito adverso no sucesso da terapêutica da neoplasia, o que traria enormes efeitos deletérios para a criança. Para além disso, os ovários pré-púberes são formados por folículos imaturos, pouco dependentes da FSH<sup>37</sup>.

A maior aplicabilidade dos análogos de GnRH parece ser em estádios muito iniciais da puberdade. Osborne *et al.* defendem a hipótese de ser possível utilizar nestas doentes os análogos de GnRH, uma vez que os seus ovários já responderão a esta terapêutica de supressão<sup>3</sup>. Em 2001, Pereyra Pacheco *et al.* publicaram um estudo acerca da utilização de acetato de leuprolide em adolescentes. Neste estudo, todas as adolescentes retomaram a menstruação ao fim de 45 a 120 dias após finalizarem quimioterapia e duas delas engravidaram nos cinco anos seguintes<sup>46</sup>.

### **Criopreservação de oócitos**

Para realizar a criopreservação de oócitos é necessário submeter a doente a terapêutica hormonal para estimulação ovárica com gonadotrofinas, o que torna esta técnica impossível de utilizar em raparigas pré-púberes uma vez que o seu eixo hipotálamo-hipófise-ovários não está ainda totalmente desenvolvido. Por isso, esta técnica está reservada a raparigas pós-púberes e em que o tratamento do cancro possa ser adiado pelo menos duas semanas, uma vez que só duas a seis semanas após o início da terapêutica de substituição hormonal é possível recolher os oócitos na fase de maturação desejada<sup>37</sup>.

### **Auto-Transplante de ovário**

São poucos os casos de transplante de ovários completos. Em 2010, Laufer *et al.* realizaram a transposição de fragmentos ováricos em duas raparigas, para os músculos tricípete e deltoide, e a transposição de um ovário completo para a região axilar numa

outra rapariga, todas elas pré-púberes, que iriam ser submetidas a radioterapia e quimioterapia. Todas elas tiveram menarca entre os 12 e os 15 anos. As duas primeiras apresentaram menstruações regulares até aos 26 e 30 anos, altura em que tiveram uma menopausa precoce. A terceira rapariga nunca apresentou uma função ovárica regular, tendo necessitado de terapêutica hormonal exógena e a função ovárica cessou aos 25 anos<sup>47</sup>.

Têm sido realizados vários estudos em modelos animais de criopreservação e implantação de ovários completos por auto-transplante com resultados otimistas, mas que ainda não foram conseguidos em humanos pelas limitações técnicas associadas ao procedimento, nomeadamente em assegurar a integridade dos folículos, estroma e vasculatura de todo o órgão<sup>37</sup>.

### **3.3.3. Resultados obtidos até ao momento**

Só mais recentemente a preocupação com as consequências a longo prazo dos efeitos dos tratamentos de neoplasias em raparigas pré-púberes começou a ser mais notório na comunidade médica. Por essa razão a aplicação das técnicas descritas é recente e os resultados visíveis são poucos, o que justifica a reduzida quantidade de casos descritos na literatura médica.

Uma das primeiras demonstrações de que é possível induzir a puberdade através de tecido ovárico de raparigas pré-púberes criopreservado foi feita por Ernst *et al.* Reportam o caso de uma rapariga diagnosticada, aos 9 anos de idade, com um sarcoma de Ewin no osso ilíaco, em que foi decidida a remoção e criopreservação de um dos ovários antes da realização de um esquema terapêutico que envolveu quimioterapia neoadjuvante e adjuvante, cirurgia e radioterapia pós-operatória na região pélvica. Quatro anos mais tarde, por se apresentar sem sinais clínicos de desenvolvimento pubertário e com níveis sérios de FSH>80 IU/L, foi realizado o transplante de dois fragmentos ováricos, implantados no ovário remanescente. Passados quatro meses, a FSH diminuiu para 9 IU/L e o estradiol sérico, até aí indetetável, aumentou para 70 pmol/L, acompanhado pelo gradual desenvolvimento pubertário clínico com menarca um ano após a cirurgia, mantendo ciclos regulares nos 6 meses seguintes. No entanto, dezanove meses após a cirurgia, a FSH aumentou novamente para valores pós-menopausicos.<sup>36</sup>

Outro caso foi descrito por Poirot *et al.* em que uma rapariga de 10 anos, sem qualquer sinal de puberdade, com anemia de células falciformes iria realizar um

transplante de células hematopoiéticas, utilizando como método de preservação de fertilidade ooforectomia direita laparoscópica e posterior criopreservação do tecido. Cinco anos mais tarde, realizou autotransplante heterotópico de fragmentos do tecido retirado para o tecido subcutâneo da parede abdominal para indução da puberdade, apresentando na altura FSH de 71.7 IU/L, sem sinais clínicos de puberdade. Oito meses depois da intervenção, a rapariga teve a menarca e apresentava já pelos púbicos e axilares. Durante os dois primeiros anos, a doente registou menstruações regulares, mas irregulares depois disso. Neste caso foi possível restaurar a função endócrina ovárica e a hipótese de futura gravidez recorrendo a técnicas de fertilização *in vitro* utilizando os seus óócitos maturados no tecido subcutâneo da parede abdominal.<sup>48</sup>

Exemplo de uma gravidez espontânea bem sucedida após transplante autólogo de tecido ovárico criopreservado é o publicado por Demeestere *et al.* Apresentam uma rapariga com diagnóstico de anemia das células falciformes desde os cinco anos de idade e que aos 13 anos realizou transplante de células estaminais e quimioterapia com múltiplos agentes. Previamente ao tratamento hematológico realizou ooforectomia direita e criopreservação de tecido ovárico, apresentando já algum desenvolvimento mamário, sem nunca ter menstruado, com níveis hormonais pré-púberes. Aos 15 anos, a menarca foi induzida com terapêutica hormonal, que manteve durante 10 anos, até à altura em que manifestou o desejo de engravidar. Com a suspensão da terapêutica hormonal, confirmou-se a insuficiência ovárica, traduzida por amenorreia permanente e aumento das gonadotrofinas. Realizou-se nesta altura, o autotransplante do tecido ovárico com implantação de fragmentos no ovário esquerdo, no peritoneu e no tecido subcutâneo. Quatro meses após a intervenção apresentava valores hormonais normais pré-menopausa (FSH de 5 IU/L, LH de 6 IU/L, estradiol de 166pg/ml), atividade ovárica em todos os locais de re-implantação de tecido criopreservado e menstruação com ciclos regulares. Ao fim de dois anos, a doente engravidou espontaneamente, uma gravidez que decorreu sem intercorrências, da qual resultou um recém-nascido saudável.<sup>49</sup>

#### **4. Conclusão**

A doença oncológica em Pediatria é uma situação trágica pela mortalidade e morbilidade que lhe está associada. Graças aos avanços notáveis da ciência são cada vez mais os sobreviventes, mas também os efeitos adversos das técnicas terapêuticas a

longo prazo, com uma crescente preocupação em relação ao futuro destes doentes, quer por parte dos médicos quer por parte dos pais.

Um dos efeitos com maior impacto é a perturbação da vida reprodutiva da mulher, tanto pelo desenvolvimento de Insuficiência Ovária Primária, como pela indução de alterações a nível uterino. A disfunção ovária terá graves consequências no crescimento da criança e saúde da mulher, pela ausência dos efeitos das hormonas sexuais nos vários sistemas de órgãos, mas também consequências a nível emocional, sobretudo pela infertilidade que lhe está associada. Atualmente a única técnica disponível para preservar a fertilidade na pré-puberdade é a criopreservação do tecido ovário que, apesar de ser ainda uma técnica experimental, se trata de um processo seguro, fácil e muito promissor, que permite a recuperação da função endócrina e reprodutora do ovário, assemelhando-se o mais possível ao processo fisiológico. No entanto, o sucesso das terapêuticas de fertilidade poderá, eventualmente, ser condicionado pelo efeito da radioterapia a nível uterino, temática que merece atenção para investigações futuras.

Assiste-se atualmente a uma mudança do paradigma do tratamento de neoplasias em idade pediátrica, que passa pela maior ponderação quanto aos prós e contras da terapêutica selecionada e a tentativa de prever e evitar os danos que daí possam advir. Várias áreas da medicina dedicam-se agora a este problema cada vez mais real e o futuro trará novas descobertas que permitirão um desfecho mais esperançoso para a maternidade destas raparigas.

## Referências Bibliográficas

1. Smith, M.A., Seibel, N.L., Altekruze, S.F., et al. (2010) Outcomes for children and adolescents with cancer: challenges for the twenty-first century. *J Clin Oncol.* 28 (15): 2625-34
2. Martinez, F., Devesa, M., Coroleu, B., et al. (2013) Cancer and Fertility preservation: Barcelona consensus meeting. *Gynecol Endocrinol* 29(4):285-91
3. Resetkova, N., Hayashi, M., Kolp, L.A., Christianson MS (2013) Fertility preservation for prepubertal girls: update and current challenges. *Curr Obstet Gynecol Rep.* 2 (4): 218-225
4. Jido, Tukur A., Cruickshank, Margaret E. (2015) Late reproductive effects of cancer treatment in children, young cancer survivors. *Obstetrics, Gynecology and Reproductive Medicine* 25:9.
5. Welt C. (2008) Primary ovarian insufficiency: a more accurate term for premature ovarian failure. *Clin Endocrinol* 68: 499-509
6. Vos, M. D., Devroey, P., Fauser, B. C. J. M. (2010) Primary Ovarian Insufficiency. *Lancet* 376: 911-21
7. Nelson, L. (2009) Clinical practise. Primary ovarian insufficiency. *New England Journal of Medicine* 360: 606-14
8. Knauff E., Eijkemans M., Lambalk C., et al. (2009) Anti-Mullerian hormone, inhibin Band antral follicle count in young women with ovarian failure. *J Clin Endocrinol Metab* 94: 786-92
9. Souto S.B., Sousa S., Soares S., Póvoa A.M., Calejo L., Xavier P., Carvalho-Braga D. (2011) Hormona Anti-Mulleriana. Novo marcador de reserva ovárica?. *Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo* 69-75
10. Visser J.A., Themmen A.P. (2005) Anti-Mullerian hormone and folliculogenesis. *Mol Cell Endocrinol* 234: 81-6
11. Rocca W., Bower J., Maraganore D., et al. (2007) Increased risk of cognitive impairment or dementia in women who underwent oophorectomy before menopause. *Neurology* 69: 1074-83
12. Rocca W., Bower J., Maraganore D., et al. (2008) Increased risk of parkinsonism in women who underwent oophorectomy before menopause. *Neurology* 70: 200-09
13. Rivera C., Grossardt B., Rhodes D., Rocca W. (2009) Increased mortality for neurological and mental diseases following early bilateral oophorectomy. *Neuroepidemiology* 33:32-40
14. Joakimsen O., Bonna K., Stensland-Bugge E., Jacobsen B. (2000) Population-based study of age at menopause and ultrasound assessed carotid atherosclerosis: the Tromso Study. *J Clin Epidemiol* 53: 525-30

15. Hershlag A., Rausch M.E., Cohen M. (2011) Ovarian Failure in Adolescent Cancer Survivors should be treated. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 24: 98-103
16. Fish J.D. (2011) Hormone Replacement for survivors of childhood cancer with ovarian failures – When is it worth the risk?. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 24: 98-103
17. Greil A.L. (1997) Infertility and psychological distress: a critical review of literature. *Soc Sci Med* 45: 1679-704
18. van Kasteren, Y., Schoemaker, J. (1999) Premature Ovarian Failure: a systematic review on therapeutic interventions to restore ovarian function and achieve pregnancy. *Hum Reprod Update* 5: 483-92
19. Green, D.M., Sklar, C.A., et al. (2009) Ovarian failure and reproductive outcomes after childhood cancer treatment: results from the Childhood Cancer Survivor Study. *Journal of Clinical Oncology* 27:14
20. Sklar, C.A., Mertens, A.C., Mitby, P., et al. (2006) Premature menopause in survivors of childhood cancer: a report from childhood cancer survivor study. *J Natl Cancer Inst* 98:890-896
21. Meirow, D., Lewis, H., Nugent, D., et al. (1999) Subclinical depletion of primordial follicle reserve in mice treated with cyclophosphamide: clinical importance and proposed accurate investigative tool. *Hum Reprod* 14:1903
22. Green, D.M., Kawashima, T., Stovall, M., et al. (2009) Fertility of female survivors of childhood cancer: a report from the childhood cancer survivor study. *J Clin Oncol* 27(16): 2677-85
23. Lawrenz, B., Rothmund, R., Neunhoeffler, E., Huebner, S., Henes, M. (2012) Fertility preservation in prepubertal girls prior to chemotherapy and radiotherapy. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 25: 284-288
24. Meirow, D., Nugent D., (2001) The effects of radiotherapy and chemotherapy on female reproduction. *Hum Reprod Update* 6: 535-543
25. Oktem, O., Oktay, K., (2007) A novel Ovarian Xenografting Model to Characterize the Impact of Chemotherapy Agents on Human Primordial Follicle Reserve. *Cancer Res* 67(21):10159–62
26. Wallace, W.H., Anderson, .R.A, Irvine, D.S. (2005) Fertility preservation for young patients with cancer: who is at risk and what can be offered? *Lancet Oncol* 6:209
27. Wallace, W.H., Thomson, A.B., Saran, F. et al. (2005) Predicting age of ovarian failure after radiation to a field that includes the ovaries. *International Journal of Radiation Oncology* 62: 738-744
28. Ginsberg, J.P. (2011) New advances in fertility preservation for pediatric cancer patients. *Curr Opin Pediatr* 23(1): 9-13



29. Detti, L., Martin, D.C., Williams, L.J. (2012) Applicability of adult techniques for ovarian preservation to childhood cancer patients. *J Assist Reprod Genet* 29(9): 985-95
30. Meirow, D. (2000) Reproduction post-chemotherapy in young cancer patients. *Molecular and Cellular Endocrinology* 169:123-131
31. Sklar, C. (1999) Reproductive physiology and treatment-related loss of sex hormone production. *Med Pediatr Oncol* 33: 2-8
32. Chemaitilly, W., Mertens, A.C., Mitby, P., et al. (2006) Acute ovarian failure in childhood cancer survivor study. *J Clin Endocrinol Metab* 91(5): 1723-1728
33. Critchley, H.O.D. (1999) Factors of importance for implantation and problems after treatment for childhood cancer. *Med Pediatr Oncol* 33: 9-14
34. Critchley, H.O., Wallace, W.H., Shalet, S.M., et al (1992) Abdominal irradiation in childhood: the potential for pregnancy. *J Obstet Gynaecol* 99: 392-394
35. Chiarelli, A.M., Marret, L.D., Darlington, G.A. (2000) Pregnancy outcomes in females after treatment for cancer. *Epidemiology* 11: 161-166
36. Ernst, E., Kjaersgaard, M., Birkebaek, N.H., Clausen, N., Andersen, C.Y. (2013) Case Report: Stimulation of puberty in a girl with chemo and radiation therapy induced ovarian failure by transplantation of a small part of her frozen/thawed ovarian tissue. *European Journal of Cancer* 49: 911-914
37. Detti, L., Martin, D.C., Williams, L.J. (2012) Applicability of adult techniques for ovarian preservation to childhood cancer patients. *J Assist Reprod Genet* 29: 985-995
38. Gook, D.A., Edgar, D.H., Stern, C. (1999) Effect of cooling rate and dehydration regimen on the histological appearance of human ovarian cortex following cryopreservation in 1,2-propanediol. *Hum Reprod* 14: 2061-2068
39. Keros, V., Xella, S., Hultenby, K., et al (2009) Vitrification versus controlled-rate freezing in cryopreservation of human ovarian tissue. *Hum Reprod*, 24: 1670-1683
40. West, E.R., Zelinski, M.B., Kondapalli, L.A., et al (2009) Preserving female fertility following cancer treatment: current opinion and future possibilities. *Pediatr Blood Cancer* 53: 289-95
41. Notarianni, E., (2011) Reinterpretation of evidence advanced for neooogenesis in mammals, in terms of a finite oocyte reserve. *J Ovarian Res* 24:87-100
42. Jadoul, P., Dolmas, M.M., Donnez, J. (2010) Fertility preservation in girls during childhood: is it feasible, efficient and safe and to whom should it be proposed?. *Hum Reprod* 16: 617
43. Fallat, M.E., Hutter, J. (2008) Preservation of Fertility in Pediatric and Adolescent Patients with Cancer. *Pediatrics* 121

44. Van Eyck, A.S., Bouzin, C., Feron, O., Romeu, L., Van Langendonckt, A., Donnez, J., et al (2010) Both host and graft vessels contribute to revascularization of xenografted human ovarian tissue in a murine model. *Fertil Steril* 93: 1676-1685
45. Dolmans, M.M., Jadoul, P., Gilliaux, S., et al. (2013) A review of 15 years of ovarian tissue bank activities *J Assist Reprod Genet* 30: 305-314
46. Pereyra Pacheco, B., Méndez Ribas, J.M., Milone, G., Fernandez, I., Kvicala, R. et al (2001) Use of GnRH analogs for functional protection of the ovary and preservation of fertility during cancer treatment in adolescents: a preliminary report. *Gynecol Oncol* 81: 391-397
47. Laufer, M.R., Upton, J., Schuster, S.R., Grier, H., Emans, S.J., Diller, L. (2010) Ovarian tissue autologous transplantation to the upper extremity for girls receiving abdominal/pelvic radiation: 20 year follow-up of reproductive endocrine function. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 23: 107-110
48. Poirot, C., Abirached, F., Prades, M., Coussieu, C., Bernaudin, F., Piver, P. (2012) Induction of puberty by autograft of cryopreserved ovarian tissue *Lancet* 379:588
49. Demeestere, I., Simon, P., Dedeken, L., Moffa, F. et al (2015) Live Birth after autograft of ovarian tissue cryopreserved during childhood *Hum Reprod* 30: 2107-2109
50. Sonmezer, M., Oktay, K. (2004) Fertility preservation in female patients. *Hum Reprod Update* 10:251

## Quadros e Figuras

Quadro 1 – Risco de desenvolvimento de subfertilidade <sup>26</sup>

Alto risco	Radioterapia de corpo inteiro
	Radioterapia pélvica
	Quimioterapia + transplante de medula óssea
	Doença de Hodgkin (com agentes alquilantes)
	Sarcoma de partes moles (estadio IV)
	Sarcoma de Ewing metastizado
Médio Risco	Leucemia Mieloblástica Aguda
	Hepatoblastoma
	Osteosarcoma
	Sarcoma de Ewing (estadio II ou III)
	Neuroblastoma
	Linfoma não-Hodgkin
	Doença de Hodgkin (sem agentes alquilantes)
	Tumor craniano (radioterapia craniana ou cranioespinhal > 24 Gy)
Baixo Risco	Leucemia Linfoblástica aguda
	Tumor de Wilms
	Sarcoma de partes moles (estadio I)
	Tumor de células germinativas (sem radioterapia)
	Retinoblastoma
	Tumor cerebral (radioterapia < 24 Gy)

Quadro 2 – Gonadotoxicidade dos Agentes de Quimioterapia <sup>23; 50</sup>

Alto risco	Ciclofosfamida
	Ifosfamida
	Clormetina
	Busulfan
	Melfalan
	Chlorambucil
Médio Risco	Cisplatina
	Carboplatina
	Doxorubicina
Baixo Risco	Vincristina
	Metotrexato
	Dactinomicina
	Bleomicina
	Mercaptopiruna
	Vinblastina